



TITLE:

ヒト腎細胞癌の基礎的研究 第6報： 培養系での腎癌細胞と正常腎細胞 の各種抗癌剤に対する感受性の相 異について

AUTHOR(S):

松田, 稔; 長船, 匡男; 中野, 悦次; 藤岡, 秀樹; 高羽, 津;
園田, 孝夫; 渡辺, 信一郎; 波田, 寿一; 東野, 一彌

CITATION:

松田, 稔 ...[et al]. ヒト腎細胞癌の基礎的研究 第6報: 培養系での腎癌細胞と正常腎細胞の
各種抗癌剤に対する感受性の相異について. 泌尿器科紀要 1981, 27(7): 759-770

ISSUE DATE:

1981-07

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/122930>

RIGHT:

ヒト腎細胞癌の基礎的研究

第6報：培養系での腎癌細胞と正常腎細胞の各種抗癌剤
に対する感受性の相異について

大阪大学医学部泌尿器科学教室（主任：園田孝夫教授）

松田 稔・長船 匡男

中野 悦次・藤岡 秀樹

高羽 津・園田 孝夫

大阪大学医学部第3内科学教室（主任：山村雄一教授）

渡 辺 信一郎

波 田 寿 一

東 野 一 彌

A FUNDAMENTAL STUDY ON HUMAN RENAL CELL CARCINOMA
PART 6. *IN VITRO* OBSERVATION ON THE EFFECT OF ANTI-CANCER
AGENTS TO HUMAN NEOPLASTIC RENAL CELLS IN
COMPARISON WITH NORMAL RENAL EPITHELIAL CELLSMinoru MATSUDA, Masao OSAFUNE, Etsuji NAKANO,
Hideki Fujioka, Minato TAKAHA and Takao SONODA*From the Department of Urology, Osaka University Hospital**(Chairman: Prof. T. Sonoda, M.D.)*

Shinichiro WATANABE, Toshikazu HADA and Kazuya HIGASHINO

*From the Third Department of Internal Medicine, Osaka University Hospital**(Chairman: Prof. Y. Yamamura, M.D.)*

To find out more effective chemotherapeutic agents against human renal carcinomas, *in vitro* sensitivity test of 12 drugs (cyclophosphamide, thio-TEPA, carbazilquinone, ACNU, 5-fluorouracil, methotrexate, cytosine arabinoside, mitomycin C, adriamycin, bleomycin, vinblastine and cis-DDP) were carried out on an established renal carcinoma cell line, OUR-10, and the results were compared with the sensitivity of *in vitro* cultivated human normal renal epithelial cells. The cellular damage caused by the drugs were estimated by the inhibition of intracellular incorporation of ^3H -thymidine or ^{14}C -leucine.

The inhibition of the isotopic incorporation into normal kidney cells was almost equal or significantly higher compared with that into the cancer cells except for mitomycin C, ACNU and 5-fluorouracil. Methotrexate was a curious drug causing the more enhanced thymidine incorporation but the more reduced leucine incorporation into OUR-10 cells.

Several problems included in the present experiment were outlined. But reviewing the past clinical results concerning about the chemotherapy on human renal carcinomas, vinblastine, mitomycin C, 5-fluorouracil and hydroxyurea were the rather effective drugs in comparison with others, the sensitivity test herein described was considered to be an useful aid seeking improved chemotherapy on human renal carcinomas.

はじめに

泌尿器科医が、腎細胞癌症例を診療対象とした際に、最も困惑し、またある意味では非常に不本意に思う点の1つは腫瘍が広汎に進展した症例に対する非手術的療法が実際にはほとんど他覚的な効果を発揮しえないことであろう。現在試みられている方法としては、内分泌療法、腫瘍動脈栓塞法、放射線療法、免疫療法などが挙げられるが、それぞれに長所とともに欠点を持ち、またその有効性については今後の検討に待つべき点も多い。

ところで本来ならば非手術的療法の主柱となるべき化学療法は、少なくともヒト腎細胞癌に関しては、他の泌尿器科領域悪性腫瘍に対する最近の著しい進歩からみればとに残された感があり、さらには過去に試みられた治療の結果から、現有抗癌剤の投与法の改善を試みる意欲よりも、新しい抗癌剤の登場に期待する姿勢すら感じられる¹⁾。

このような腎細胞癌に対する化学療法の現状をすこしでも打開するため、著者は今回、培養細胞を用い、すこしでも有効と考えられる抗癌剤の選択を試みた。さらにこの研究の特長として、議論も多いであろうが、ヒト正常腎培養細胞の薬剤に対する感受性を対照とし、腎細胞癌細胞のそれとを比較検討することをおこなってみた。この研究より得られた結果は過去の臨床例における治療成績からみて非常に興味あるものと思われるので、ここに報告する。

材料および方法

1) 感受性テストの対象とした細胞

この実験に使用した癌細胞は本報告²⁾の第5報において詳述した OUR-10 細胞である。また対照として使用したヒト正常腎由来細胞の培養方法ならびにその形態学的、生化学的性質はすでに本誌に報告³⁾したとおりであり、特に副甲状腺ホルモンに対する応答性を有する細胞、すなわち近位尿管細胞を含むことから、近位尿管細胞に由来すると考えられるヒト腎細胞癌の正常対照として適切なものであることを確認した。

2) スクリーニング試験に用いた抗癌剤

アルキル化剤として cyclophosphamide (Endoxan®), thio-TEPA (Tespamine®), carbazylquinone (Esquinone®), ACNU (1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride, Nidran®) の4種をえらび、代謝拮抗剤として 5-fluorouracil (5-FU®), methotrexate, cytosine arabinoside (Cytocide®) の3種を、抗癌抗生物質として mito-

mycin C, adriamycin, bleomycin の3種を、植物アルカロイドとして vinblastine (Exal®), および最近率丸腫瘍の化学療法においてその有用性が注目されている cis-diamminedichloroplatinum (cis-DDP) の合計12種の薬剤を使用した。いずれも市販または治験用の注射薬を培養液に希釈し利用した。

3) 方法

加藤ら⁴⁻⁶⁾により報告されている方法、および三浦ら⁷⁾により報告された方法を参考とし次のような手順にておこなった。OUR-10 細胞または培養開始後3週間目前後の正常腎細胞を 1×10^3 /ml に20% fetal calf serum を含む培養液 (OUR-10 には RPMI 1640, 正常腎細胞には Eagle's minimum essential medium) に浮遊し、この 100 μ l を microplate (Falcon plastics, 3030) に分注し、5% CO₂ 存在下に 37°C で静置培養する。それぞれの細胞の対数増殖期は約7日および約9日間継続するので、この期間内にテストを終了するため、培養開始後4日目に、最終濃度 10^{-3} μ g/ml \sim 10^2 μ g/ml となるように各ウェルに抗癌剤を添加する。2時間または24時間 37°C にて incubation をおこなったのち培養上清を捨て、phosphate buffered saline にて3回洗滌し、ついで 100 μ l の新鮮培養液を加え24時間培養する。これに ³H-thymidine (2.0 Ci/mmol, New England Nuclear), ¹⁴C-leucine (5.0 Ci/mmol, New England Nuclear) をそれぞれ 10 μ Ci/ml, 5 μ Ci/ml に含む培養液 10 μ l を添加しさらに24時間培養し、isotope を細胞内にとり込ませた。培養上清を除き 0.25% trypsin in phosphate buffered saline にて底面に付着せる細胞を剝離せしめたのち、multisample cell harvester (ラボサイエンス社製) を用い、蒸留水を灌流しつつ glass microfiber paper (Whatman, GF/C) 上に細胞を集めた。フィルターを十分に乾燥せしめたのち、トルエンシンチレーター (PPO 2 g, POPOP 0.2 g/1000 ml toluene) 4 ml を容れたバイアルに移し、液体シンチレーションカウンター (Nuclear Chicago, Mark III) を用い、³H および ¹⁴C のカウントを測定、薬剤処理をおこなわなかったものの取り込みを100%とし薬剤による取り込み阻害の程度を検討した。なお以上の測定は triplicate にておこない、また同様の実験を2回くり返し、その再現性を確認した。

なお三浦らの方法と異なる点は細胞を集めた glass microfiber paper の trichloroacetic acid による洗滌をおこなわず、細胞そのものへのとりこみ(酸不溶性分画へのとり込みではなく)を観察したこと、および薬剤処理後24時間の期間において isotope を添加

した点であるが、前者については三浦らも再現性の点よりみて、現在では細胞全体への取り込みを観察する方法を検討しており⁸⁾、また後者に関しては、加藤ら⁴⁾により詳細に報告されているように、薬剤処理直後の isotope 添加による測定値のバラツキを除去するためである。

結果および判定

1) アルキル化剤

a) cyclophosphamide

Fig. 1 に示すように、試みられた濃度および時間の処理では OUR-10、正常腎細胞のいずれにも、thymidine または leucine の細胞内とり込み阻害効果はみられなかった。これは本薬剤が masked compound であることから、この実験系では真の細胞障害能の測定ができず、他の工夫が必要であることを示すとともに、この実験系が測定値のバラツキの少ない信頼性の高い方法であることを示している。

b) thio-TEPA

thymidine のとり込みは、2 時間処理では 10 μ g/ml 以上の濃度で、24 時間処理では 1 μ g/ml 以上の濃度ではほぼ50%を超える阻害をみるが、OUR-10 に比し、正常腎細胞はより大きな阻害効果を受ける。leucine

のとり込みは、24 時間処理、100 μ g/ml の濃度で control の約20%に低下するが、OUR-10 および正常腎細胞との間にとり込み阻害効果の差はみられない (Fig. 2)。

c) carbazilquinone

50%を超える thymidine とり込み阻害は、2 時間処理では 0.1 μ g/ml の濃度で、24 時間処理では 0.02 μ g/ml の濃度ですでに観察されるがいずれの効果も OUR-10 に比し正常腎細胞においてより著明に認められる。leucine のとり込み阻害も、2 時間処理では 1 μ g/ml 以上の濃度で、24 時間処理では 0.1 μ g/ml 以上の濃度でつよく認められるが、正常腎と OUR-10 との間にその差はみられない (Fig. 3)。

d) ACNU

leucine のとり込みは、100 μ g/ml 24 時間処理においてもほとんど認められないが、thymidine のとり込みは、100 μ g/ml の濃度で 2 時間、時間処理のいずれにおいても抑制がみられ、またこの阻害の程度は、正常腎細胞に対する効果よりも OUR-10 に対する効果の方が有意に著しいものであった ($P < 0.05$, Fig. 4)。

2) 代謝拮抗剤

a) 5-fluorouracil

2 時間処理では 10 μ g/ml 以上の濃度で、24 時間処理では 1 μ g/ml 以上の濃度で thymidine および

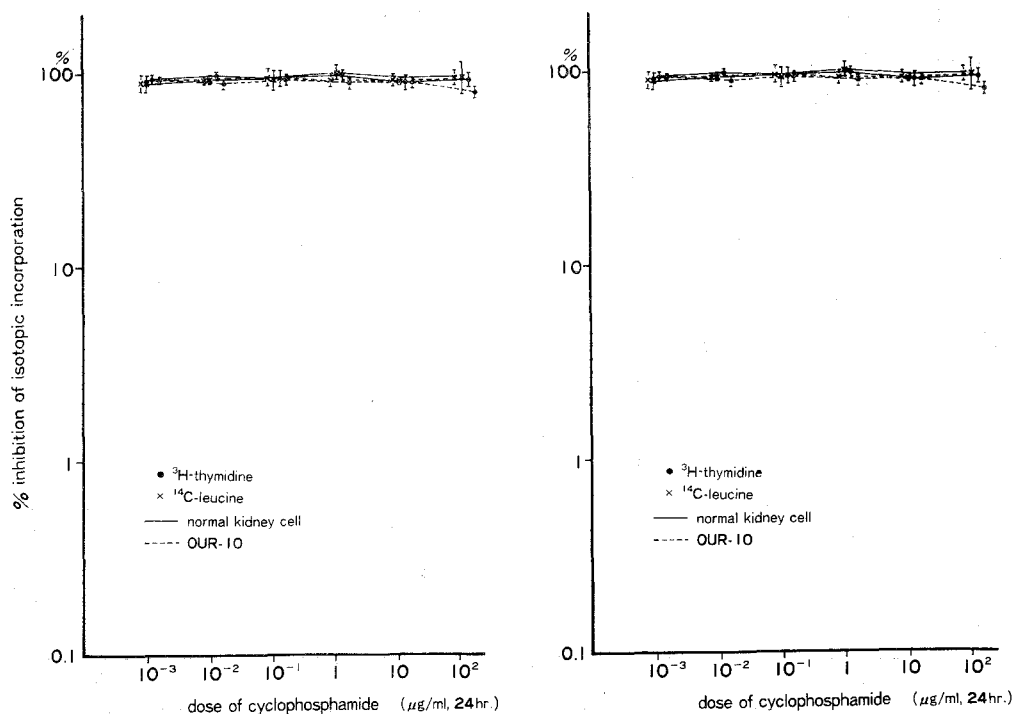


Fig. 1. Effects of cyclophosphamide

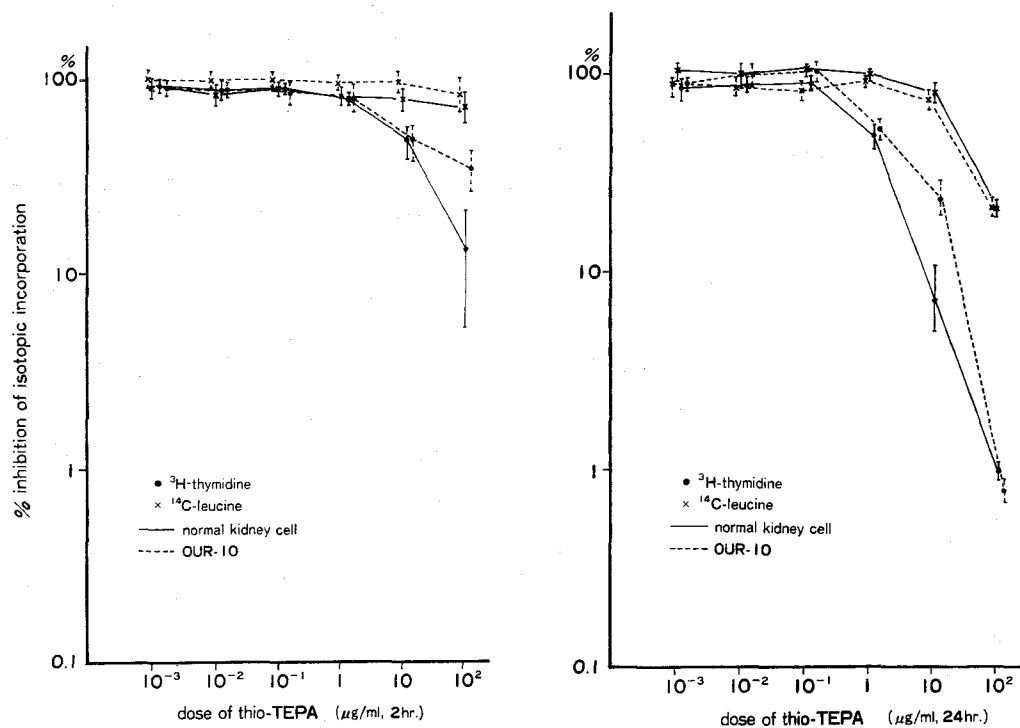


Fig. 2. Effects of thio-TEPA

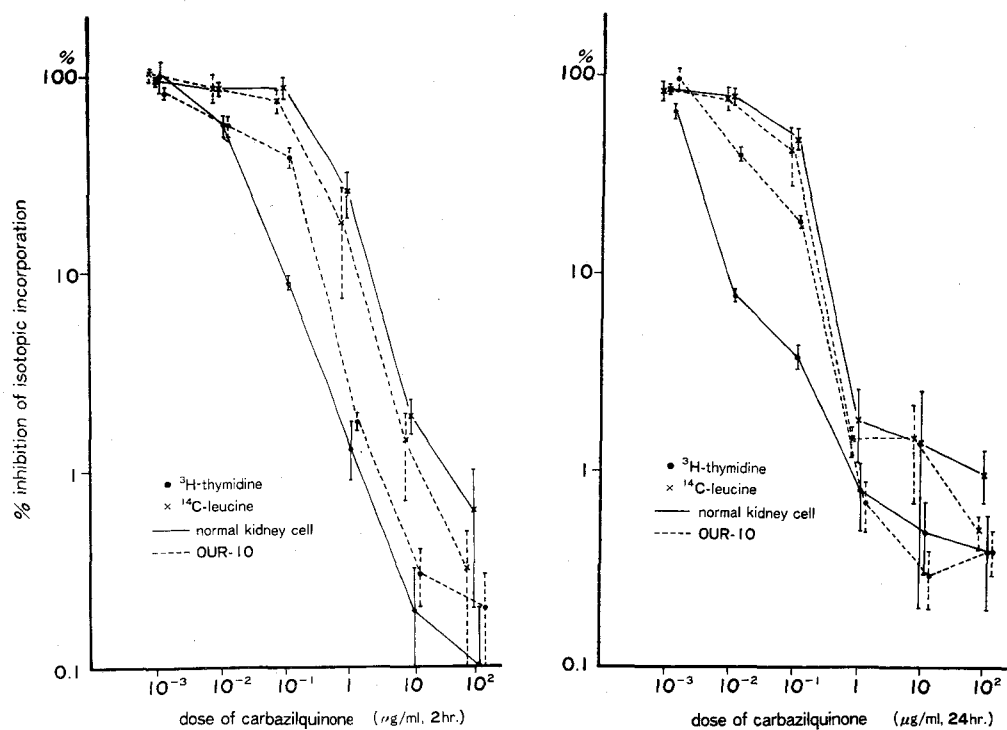


Fig. 3. Effects of carbazilquinone

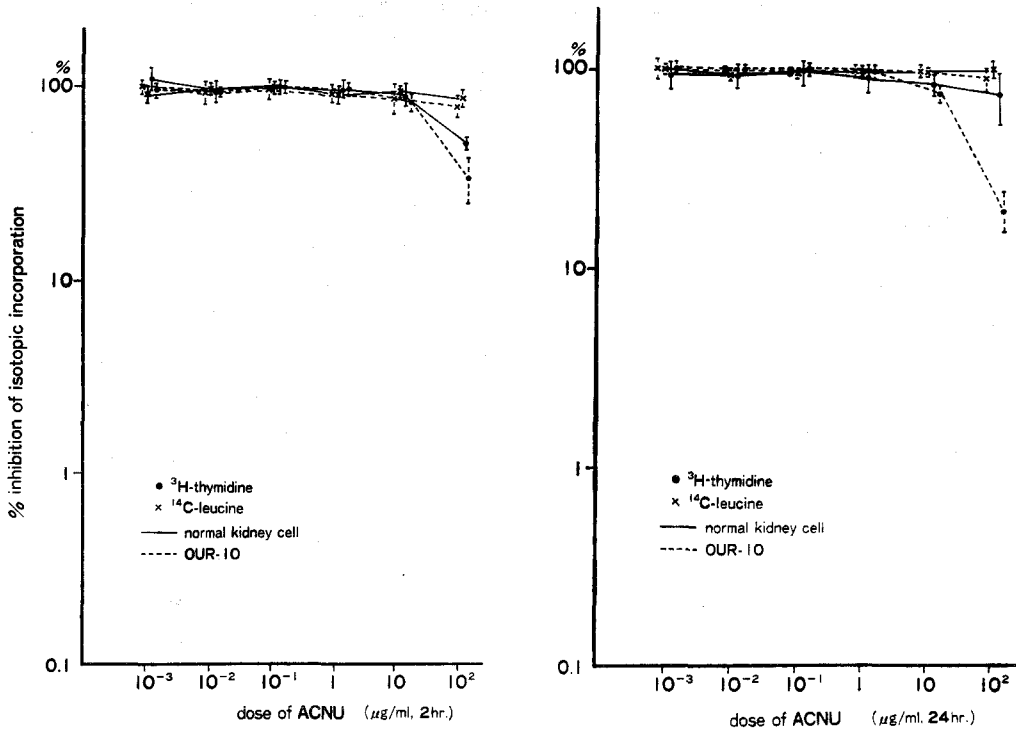


Fig. 4. Effects of ACNU

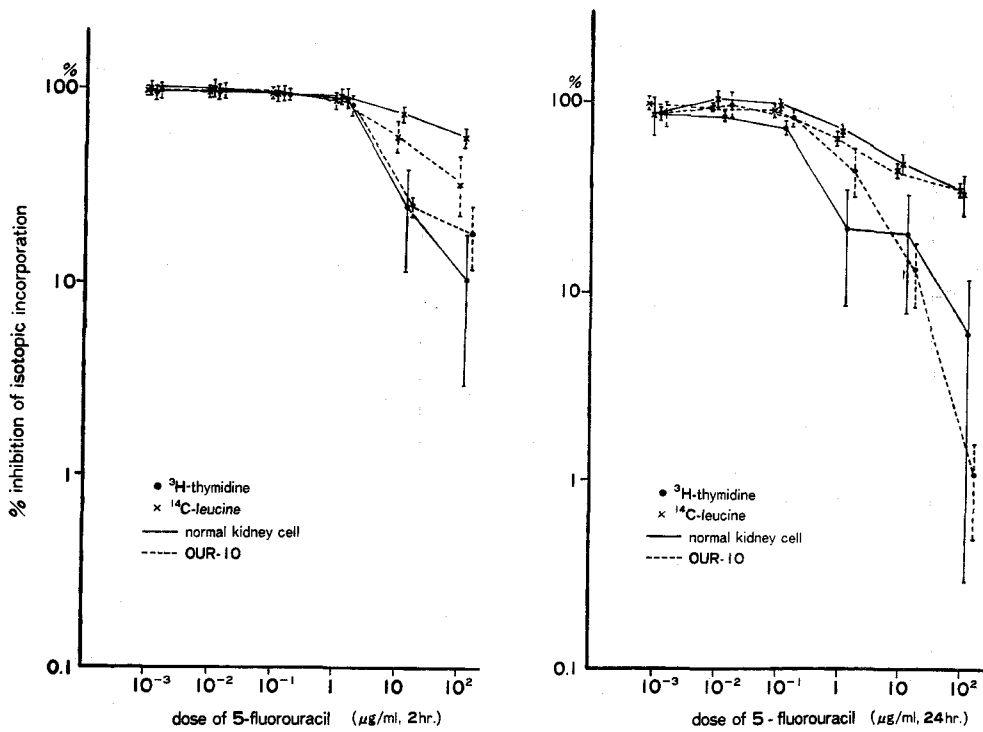


Fig. 5. Effects of 5-fluorouracil

leucine の取り込み阻害効果が発現する。特記すべき点は、24時間処理ではこの現象はみられないが、2時間処理では leucine のとり込みが正常腎に比し OUR-10 がより著しく阻害される点である ($P<0.05$)。thymidine のとり込みでみると両者間に差はみられない (Fig. 5)。

b) methotrexate

2時間処理において、leucine のとり込み阻害効果はほとんど認められないが、10 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では正常腎細胞および OUR-10 細胞にほぼ同等の thymidine 取り込み増加が観察される。24時間処置では程度は著しくはないが OUR-10 に有意につよい leucine のとり込み阻害および 1 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で OUR-10 に著しい thymidine のとり込み増加がみられる。methotrexate は一般に時間依存性の薬剤と考えられており、長時間作用によって癌細胞により大きな効果をもたらすことは注目すべき点である。また thymidine のとり込み増加は、methotrexate が de novo のチミジン酸合成反応阻止をその作用機序とすることから、核酸合成の salvage 系がより能率的に働くようになるためと推定される。さらに、より多く thymidine が取りこまれるのは、より強くチミジン酸

合成系が阻害されるものと考えれば、methotrexate は正常腎に対してよりも OUR-10 に対する影響の方がより著しいのではないかと考えられるが、この薬剤については酸不溶性分画への取り込みの変化など今後の検討が必要である (Fig. 6)。

c) cytosine arabinoside

leucine のとり込みに対する効果はそれほど著しいものではないが、thymidine のとり込み阻害効果は濃度および作用時間に依存して阻害効果がみられる。しかしこの効果はいずれの時間、および濃度からみても、OUR-10 に対する効果より正常腎に対する阻害効果がより著しい (Fig. 7)。

3) 抗癌抗生物質

a) mitomycin C

DNA 合成阻害剤として最も一般的なものであるが、正常腎ならびに OUR-10 に対する thymidine のとり込み阻害は、かなり著明ではあっても差はみられない。しかし leucine の取り込みを指標としてみると、100 $\mu\text{g/ml}$, 2時間処理、あるいは 1~10 $\mu\text{g/ml}$, 24時間処理で正常腎細胞に比し統計学的に有意に高い OUR-10 への取り込み阻害効果がみられる (Fig. 8)。

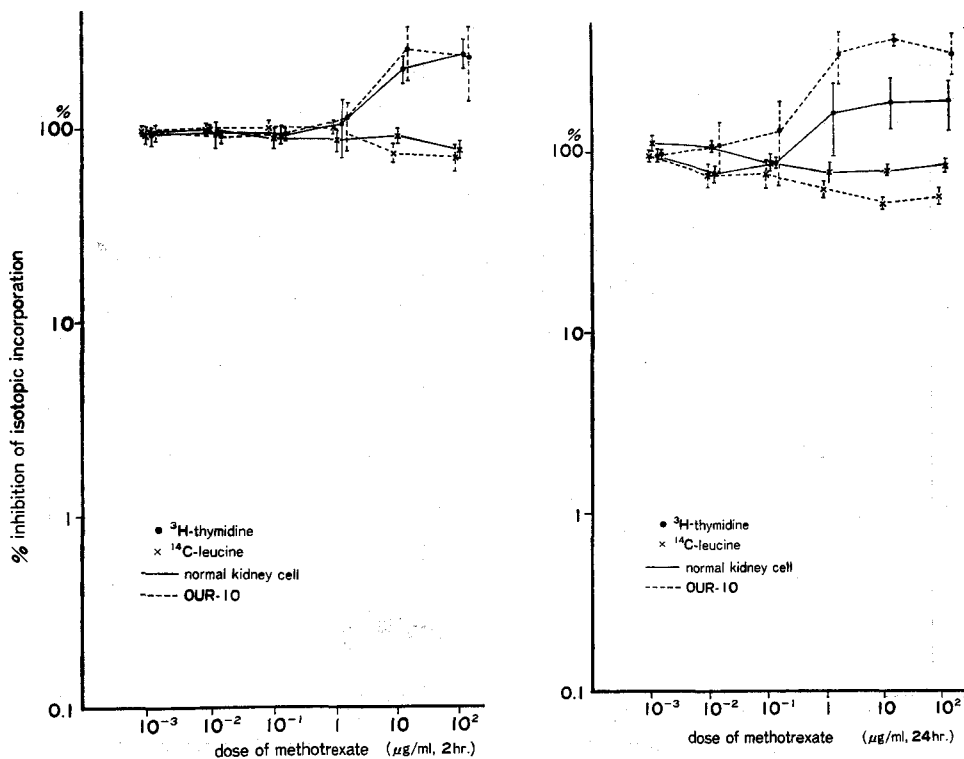


Fig. 6. Effects of methotrexate

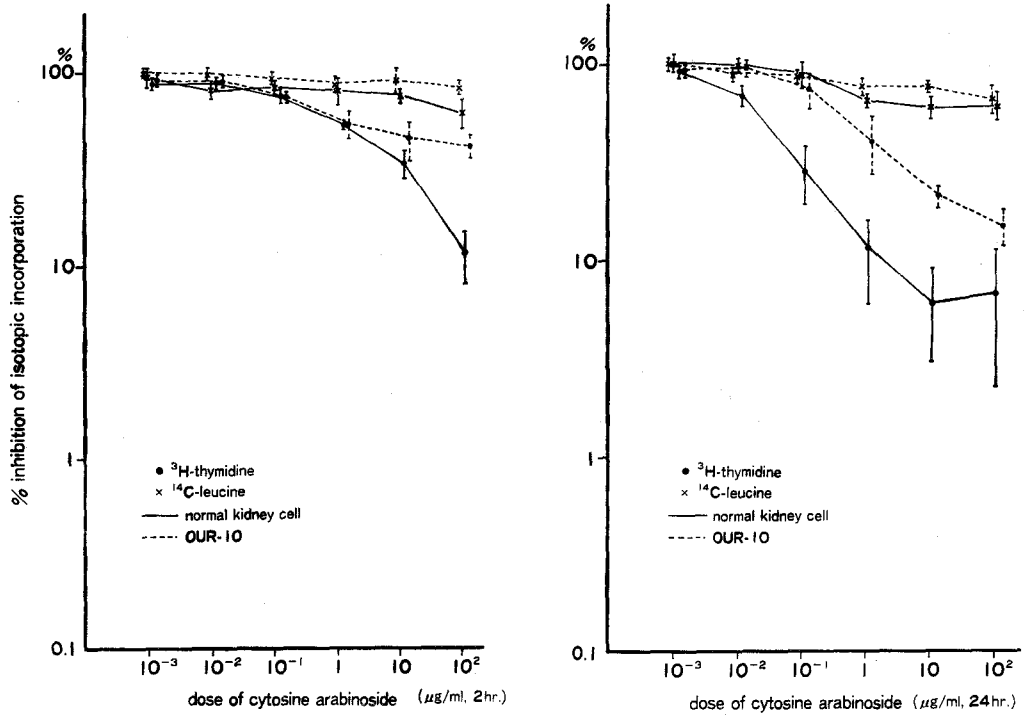


Fig. 7. Effects of cytosine arabinoside

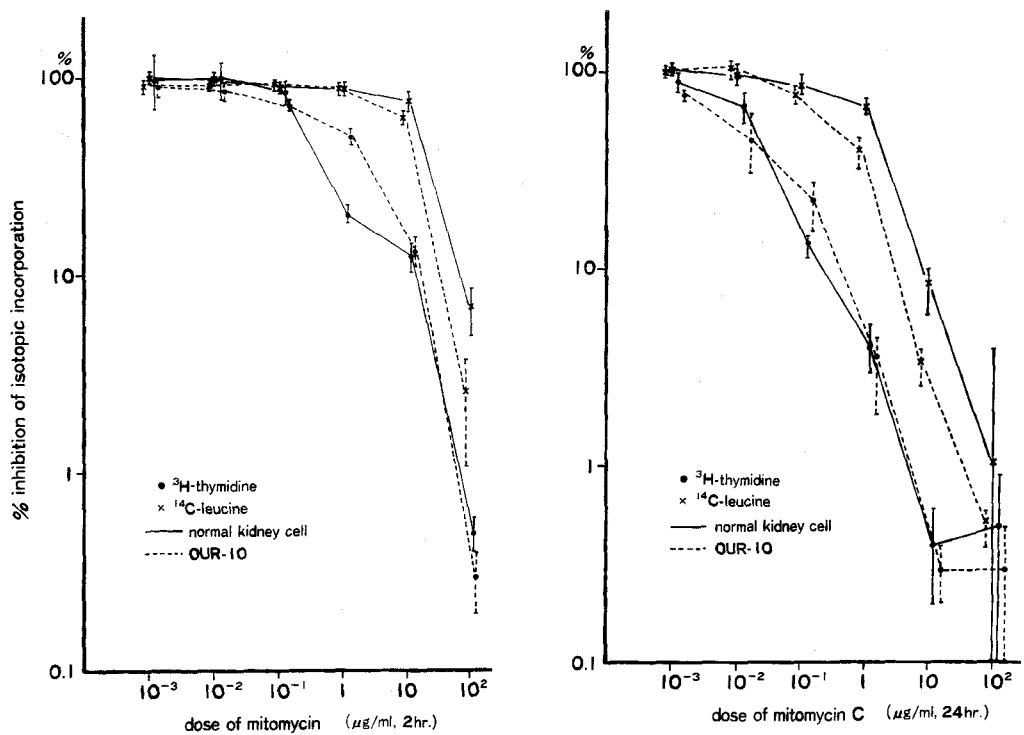


Fig. 8. Effects of mitomycin C

b) adriamycin

2時間処理では thymidine および leucine のとり込み阻害効果は、正常腎との間に特に差はみられず、また少なくとも OUR-10 により著しい阻害のみられる場合はない。24時間処理でみても $1 \mu\text{g/ml}$ の濃度で leucine のとり込みが正常腎に比し OUR-10 でよりよく阻害されるという1点の例外を除き、OUR-10 がより高い阻害を受ける現象はみられなかった (Fig. 9).

c) bleomycin

処置時間よりもおもに薬剤濃度につよく依存して leucine および thymidine のとり込み阻害効果がみられるがいずれの取りこみも OUR-10 に比し正常細胞がよりよく阻害される (Fig. 10).

4) その他

a) vinblastine

2時間処理、および時間処理のいずれについても leucine のとり込み阻害の程度は正常腎細胞と OUR-10 との間に差はみられず、また thymidine のとり込みは正常腎細胞が OUR-10 と同等またはより以上の阻害効果をみせる。なおこの薬剤では $100 \mu\text{g/ml}$, 24時間処理をおこなった際には thymidine のとり込み阻害効果の減少が明らかにみられた (Fig. 11).

b) cis-DDP

おもに濃度依存性の thymidine および leucine のとり込み阻害効果を示すが、OUR-10 が正常腎細胞に比しよりよく阻害される現象はまったく認められなかった (Fig. 12).

以上のように、今回試みた、正常腎細胞を比較対照としてのヒト腎癌細胞の抗癌剤感受性のスクリーニングテストでは、大部分の抗癌剤が、癌細胞に比し、正常腎細胞により大きな isotope のとり込み阻害効果を示した。しかしながら、thymidine を指標とした ACNU の効果、2時間処理で leucine を指標としてみた 5-FU の効果、24時間処理で thymidine, leucine のいずれの指標でもみられた methotrexate の効果、および leucine を指標としての mitomycin C の効果は、正常腎細胞に比し癌細胞がよりよく影響を受ける場合のあることを明らかにした。

考 察

癌に対する化学療法を効果的におこなうには、投与方法に関する検討もさることながら、薬剤として何を選択するかが最も重要な問題である。このため、薬剤の作用機序の解明は、理論的に妥当な薬剤を選択し、あるいは併用して治療効果を高めるために大切な手段

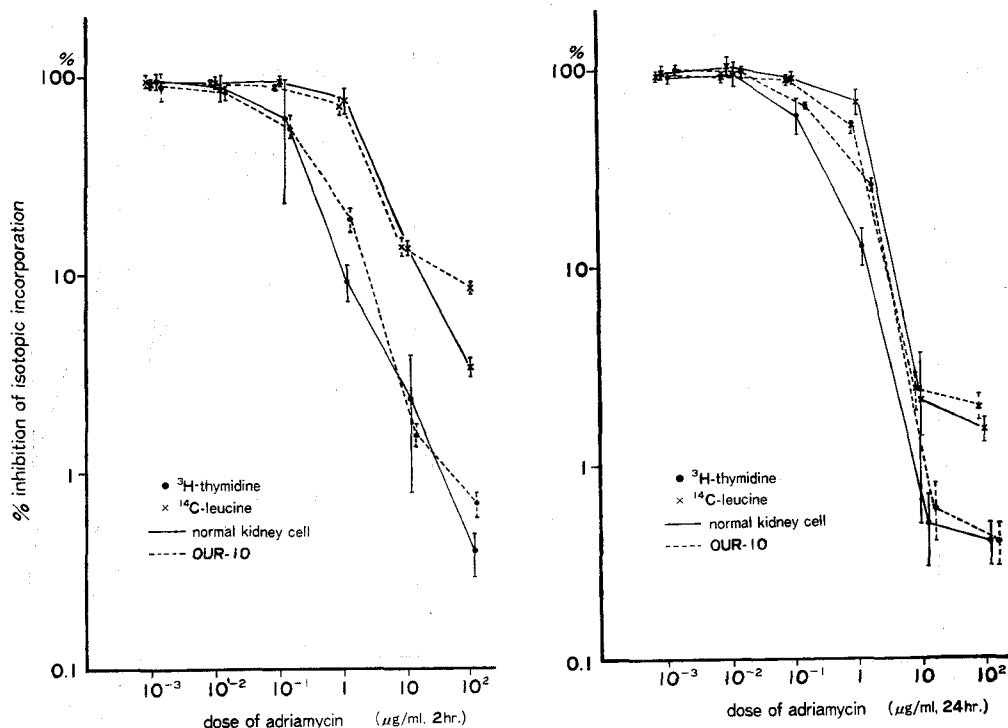


Fig. 9. Effects of adriamycin

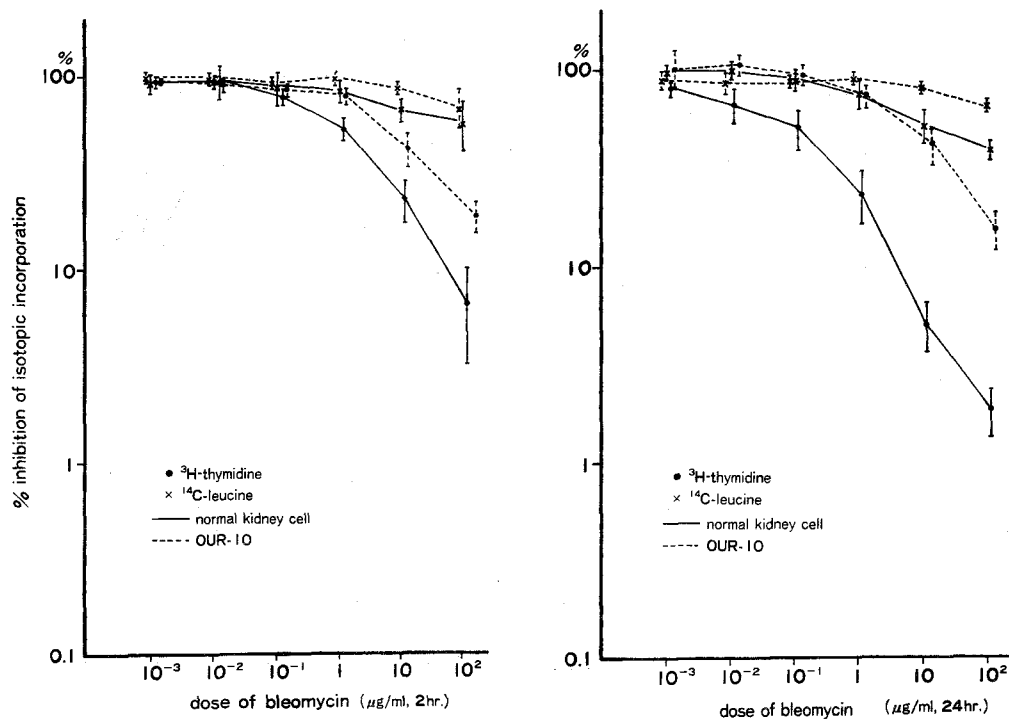


Fig. 10. Effects of bleomycin

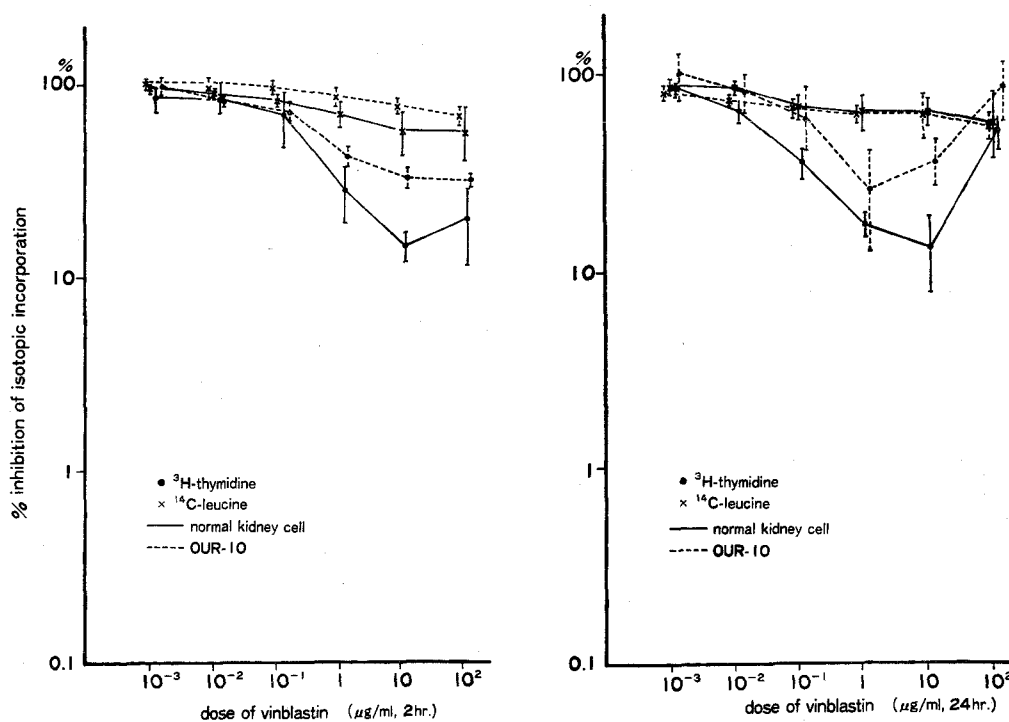


Fig. 11. Effects of vinblastine

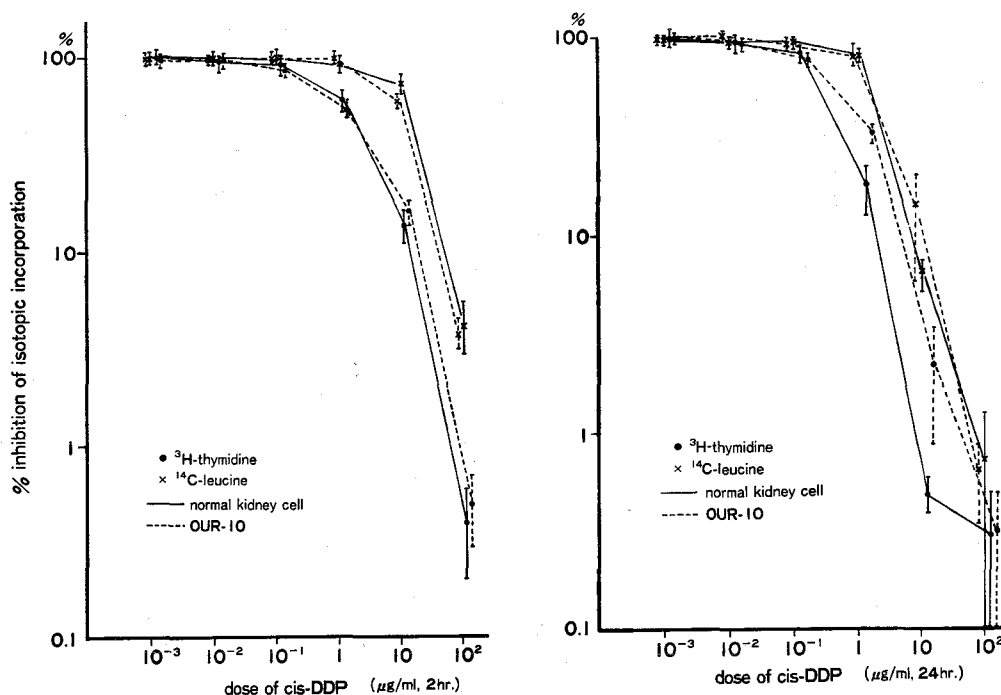


Fig. 12. Effects of cis-DDP

であり、もちろん近年この分野に関する研究は急速に進展しつつある。特に癌細胞の増殖と、各種抗癌剤の cell cycle への影響に関する研究は各剤併用療法に関する有益な知見をもたらしめつつある⁹⁾。

また一方では、おもに臨床的経験から、抗癌剤には癌の種類に対する特異性とでもいえるべき性質のあることが知られている。たとえば絨毛上皮腫に対する methotrexate、扁平上皮癌に対する bleomycin、ウィルムス腫瘍に対する actinomycin D の効果などは、これらいずれの薬剤も *in vitro* では多くの種類の細胞に対し障害性を有しているにもかかわらず、臨床的にはかなりの特異性を示す。このことから、腫瘍の薬剤に対する感受性の相異は、単に薬剤の作用機序の相異のみによるのではなく、宿主の薬剤代謝、運搬能力なども含む、宿主—腫瘍—薬剤の三者が関与した複雑な過程の最終的な結果として現れるものと考えられる。ここである薬剤の宿主に対する影響が、一般に共通するものと仮定すれば、腫瘍と薬剤の関係、特に腫瘍の薬剤に対する感受性を知ることは、先にのべた適切な薬剤を選択するにあたり非常に有意義であり、事実、過去に多くの方法による感受性テストが開発されてきた。これらテスト法の歴史、意義、問題点などについては立派な総説¹⁰⁻¹¹⁾もあり、ここにくり返すことは不

必要であろう。

そこで以下、今回おこなった正常腎培養細胞を対照として観察した腎細胞癌細胞の薬剤に対する感受性テストの意義や問題点につき考察してみたい。

1) 腎細胞癌の生化学的特性

抗癌剤の作用機序が明確であり、また腫瘍の生化学的、生物学的性質もまた明確なものであれば、その腫瘍に対し適当な薬剤がおのずから導びき出されるであろう。たしかに最近ヒト腎細胞癌の生化学的特性に関する研究は急速に進展しつつある。特に内分泌療法の適否に関する腎細胞癌のステロイドホルモンレセプターに関する研究は^{12,13)}、臨床的意義を考えると非常に重要なものの1つである。しかしながら、抗癌剤の適応に関し何らかの意義があると思われる研究はきわめて少なく、プリンの代謝、相互変換に関し、一般に腫瘍ではプリン体の分解は低下し、合成は促進してはいるが IMP dehydrogenase, AMP deaminase の腫瘍での活性上昇が特徴的であり、AMP 合成の促進とともに adenine 系から guanine 系への転換がより促進しているとの報告¹⁴⁾をみるのみといっても過言ではない。すなわち生化学的代謝特性から適切な抗癌剤を選択、推定するにはほど遠い状態であると認めざるをえない。

2) 正常細胞を比較対照としてみた癌細胞の抗癌剤感受性の意義

上述した現状の中で、できるだけ腎細胞癌に対する有効な薬剤の選択を望むならば、抗癌剤の癌細胞に対する効果を何らかの指標でもって判断してゆく以外に方法はないであろう。この際すでに指摘されているように指標として何を利用するかが非常に重要な問題であるが¹⁴⁾、もう1つ注意しなければならないと思われる点は、抗癌剤の効果が、正常細胞にも腫瘍細胞と共通して発揮される効果であるのか、あるいはこの両者間で何らかの差をもった効果であるのか、という側面をも検討する方法でなければならない点である。これに関し、近藤ら¹⁵⁾はさまざまな腫瘍の抗癌剤感受性を *in vitro* での succinic dehydrogenase 活性阻害テストにより施行しているが、この際その症例の正常肝組織に対する薬剤の効果との差をもって腫瘍に対する感受性を示す最良の指標としているが、著者には非常に興味ある方法と思われる。しかしながら近藤らも指適しているようにさまざまな腫瘍に対し正常肝を比較対照とすること、あるいは著者のように腎細胞癌に対し正常腎を比較対照として用いることは、実際臨床上の問題を考えた場合、化学療法の副作用のおもな部位が骨髄に対する障害であることからみて問題がある。臨床的意義を考慮すれば比較対照としては Tisman ら¹⁶⁾がおこなったように骨髄細胞を選ぶか、あるいはその薬剤が宿主に対し最もよく影響をおよぼす部位の細胞を選ぶべきであるのかもしれない¹⁷⁾。

3) 培養細胞を用いて感受性テストをおこなうことの問題点

宿主内にある腫瘍を試験管内に移し、その細胞を増殖せしめて研究対象として利用することの危険性は別に述べたとおりである^{2,3)}。このことの危険性をできるだけ少なくするため、著者は正常腎培養細胞を比較対照とすることを試みた。しかしこれでもなお、癌細胞も正常細胞も、いずれも培養系に移した場合にみられる変化が同一の過程ではないことは、たとえば alkaline phosphatase の活性や γ -GTP の isozyme の変化をみれば明らかであり、問題なしとは言えない⁴⁾。また細胞の増殖動態、細胞回転の状態も培養細胞系が宿主内での増殖の様子¹⁸⁾を反映しているものではない。この点からみれば感受性テストとしては培養細胞を利用する方法よりも腫瘍組織そのものを利用する SDI 法や¹⁹⁾ INAS 法¹⁹⁾がすぐれているのではないかとと思われるが、さらにはヌードマウスなどを利用し生体内で増殖しつつある腫瘍に対する感受性テストが理想的なものかもしれない^{20,21)}。しかしたとえどの

ような方法を用いるにせよ、その感受性テストの成績が、臨床治療成績と一致するかどうかの検討が最も重要であることは言うまでもない。

4) 今回の研究結果の意義

著者のおこなった今回の研究に関する重要な問題点は上に述べてきたとおりである。それではこのような感受性試験法は臨床的にみて全く無価値なものとして捨て去るべき手段であろうか。これに対し著者は以下の理由をもって決して価値のないものではなく、腎細胞癌に対する有効な薬剤を選択する1つの手段となりえるのではないかと考えている。

ヒト腎細胞癌に対する化学療法の臨床治療成績についての報告は多数みられるが、最近 Bodey¹⁾によりまとめられた結果では、単剤により治療で腫瘍に対する効果がみられた薬剤は vinblastine 25%, mitomycin C 11%, 5-FU 5%, hydroxyurea 5%, nitrogen mustard 4%, 6-MP 2% であり、この他 cyclophosphamide, cis-DDP, bleomycin, adriamycin にいづれも臨床的に効果のみられた症例はないとされている。この臨床成績と照らし合わせ、今回の実験の結果をみると、vinblastine を除き、比較的有効例のみられた mitomycin C, 5-FU、およびニトロソウレア系アルキル化剤である ACNU を、腫瘍細胞によりつよい isotope のとり込み阻害をもたらす薬剤として指摘することができており、ある程度、腎細胞癌の薬剤に対する感受性を反映せしめえたのではないかと考えられる。

以上より正常腎細胞を比較対照として置いた腎細胞癌細胞の leucine あるいは thymidine 取り込み阻害による感受性テストは、今後個々の症例においてその腫瘍と正常部の培養細胞を用い最も適切な薬剤を選ぶ手段として、あるいは OUR-10 を用いれば、新しく登場するであろう抗癌剤の腎細胞癌に対するスクリーニングテストとして有意義なものと考えられる。

結 語

1. ヒト腎細胞癌に対する有効な化学療法剤を見出すため、培養腎細胞癌株 OUR-10 を用い、培養正常腎細胞を対照として12種の化学療法剤に対する感受性テストを、¹⁴C-leucine および ³H-thymidine の細胞内への取り込み阻害を指標としておこなった。
2. 正常腎細胞に比し、OUR-10 に対する isotope の取り込み阻害効果がより著明であったものは、mitomycin C, ACNU, 5-FU であった。
3. 現在までに研究されてきた腎細胞癌の特性につき簡単にふり返り、現状では化学療法剤の作用機序が

- ら有効な薬剤の選択は不可能であることを述べた。
4. 現在施行されている抗癌剤感受性試験の重大な問題の1つは、癌に対し特異的に(選択的に)働く薬剤と、生細胞に共通して影響をおよぼす薬剤との区別がなされていないことであることを指摘し、何らかの比較対照をおいた感受性テスト、あるいは理想的には宿主に存在する時と同様に増殖する腫瘍に対する感受性テストが必要であることを述べた。
5. 過去におこなわれた腎細胞癌に対する化学療法の成績を参照し、今回の実験において腫瘍に対しより *isotope* とり込み阻害のつよい薬剤が、比較的有効例の多かった薬剤であることから、このようなテストが抗癌剤感受性テストとして有意義な方法となり得るのではないかと考えた。

本論文の要旨は第39回日本癌学会総会(東京)にて発表した。

文 献

- 1) Bodey, G.P.: *Cancer of the Genitourinary Tract*. ed. by D.E. Jhonson and M.L. Samuels, pp.67~72, Raven Press, New York, 1979.
- 2) 松田 稔・長船匡男・中野悦次・石橋道男・古武敏彦・園田孝夫・渡辺信一郎・波田寿一・大河内寿一・東野一彌・山村雄一・平岡 諦: 泌尿紀要, **26**: 253, 1980.
- 3) 松田 稔・長船匡男・石橋道男・中野悦次・高羽津・園田孝夫・波田寿一・渡辺信一郎・東野一彌・平岡 諦・森本茂人: 泌尿紀要, **26**: 1201, 1980.
- 4) 加藤哲郎・根本良介・西本 正: 最新医学, **34**: 911, 1979.
- 5) 加藤哲郎・熊谷郁太郎・三浦邦夫・根本良介・西本 正: 日泌尿会誌, **69**: 1308, 1978.
- 6) 加藤哲郎・石川 清・根本良介: 日泌尿会誌, **68**: 901, 1977.
- 7) 三浦 猛・窪田吉信・西村隆一・高井修道・梅田 誠: 癌と化学療法, **7**: 81, 1980.
- 8) 三浦 猛: 私信.
- 9) 朝村光雄・佐藤春彦・金丸龍之介・涌井 昭: 最近医学, **33**: 2196, 1978.
- 10) 近藤達平: 最新医学, **33**: 2175, 1978.
- 11) 近藤達平: ファルマシア, **15**: 805, 1979.
- 12) 中野悦次・松田 稔・長船匡男・園田孝夫・佐藤文三・古武敏彦: 日泌尿会誌, **71**: 580, 1980.
- 13) 中野悦次: 日泌尿会誌, **71**: 775, 1980.
- 14) Jackson, R.C., Goulding, F.J. and Weber, G.: J. Natl. Cancer Inst., **62**: 749, 1979.
- 15) 近藤達平・市橋秀仁: 最新医学, **33**: 2239, 1978.
- 16) Tisman, G., Herbert, V. and Edlis, H.: *Cancer Chemother. Rep.*, **57**: 11, 1973.
- 17) Chello, P.L., Sirotnak, F.M., Dorik, D.M. and Donsbach, R.C.: *Cancer Res.*, **37**: 4297, 1977.
- 18) Rabes, H.M., Carl, P., Meister, P. and Rattenhuber, U.: *Cancer*, **44**: 799, 1979.
- 19) 東 弘・天方大弼・梶 正博・高井新一郎・神前五郎: 最近医学, **33**: 2263, 1978.
- 20) 谷 忠憲・西廻和春・新本 稔・服部孝雄: 最近医学, **33**: 2293, 1978.
- 21) 田口鉄男・薄金真雄・藤田昌央・中野陽典・早田敏: 最新医学, **33**: 2300, 1978.

(1981年1月20日受付)